

## 基于表面增强拉曼光谱的合成色素专利蓝 V 的快速检测

王 昕<sup>1</sup>, 何 坚<sup>1\*</sup>, 范贤光<sup>1,2</sup>, 陈启振<sup>3</sup>, 曾勇明<sup>3</sup>, 赖复龙<sup>3</sup>, 陈宏炬<sup>3</sup>, 田中群<sup>4</sup>

1. 厦门大学航空航天学院, 福建 厦门 361102
2. 福建省传感技术高等学校重点实验室, 福建 厦门 361102
3. 厦门市普识纳米科技有限公司, 福建 厦门 361102
4. 厦门大学化学化工学院, 福建 厦门 361102

**摘 要** 食品安全问题一直是社会和群众关注的焦点问题, 食品安全现状较为严峻, 因此实现食品中有害物质的快速检测具有重要的实际意义。合成色素是一种常见的食品添加剂, 然而合成色素的超标添加和非法添加依旧是食品安全中的重要问题之一, 极大地危害人民群众的身体健康和食品工业的健康发展。常见的合成色素检测方法, 均存在耗时长、费用高等缺点, 不适用于合成色素的实时监测和快速筛查。为克服传统方法的缺点, 提出利用表面增强拉曼光谱检测技术对合成色素进行检测, 该方法具有检测速度快、检测灵敏度高优点, 能够达到现场实时检测的目的。此外, 由于拉曼检测方法往往依赖于复杂的样品前处理操作, 而常见的固相萃取技术一般依赖于人工操作, 过程复杂且耗时较长, 严重影响食品快速检测效率。因此, 开发了一种全自动固相萃取装置, 通过设计嵌入式硬件电路系统及其软件, 精确控制蠕动泵流速和多路阀门开关实现了活化、上样、淋洗、洗脱四个步骤的全自动操作和参数控制, 从而达到食品样品的全自动快速固相萃取。在实验部分, 配制不同专利蓝 V 浓度的果汁饮料, 然后利用该装置对果汁中的专利蓝 V 进行前处理, 对萃取柱填料和萃取中各个步骤的时间和试剂进行了合理的选择, 利用表面增强拉曼光谱检测技术成功地检测了合成色素中的专利蓝 V。实验结果表明, 所研制的自动固相萃取装置对比传统手工萃取, 每个样品节省了近一半的萃取时间(10 min 降为 5 min)且能够同时处理 5 个样品, 萃取时间稳定不易受人为因素影响, 从而极大地提高了萃取效率和稳定性。此外, 通过自动萃取获得的样品, 对比手工萃取操作, 因其受外界干扰相对较小, 能够得到更强的拉曼光谱信号(约增强 50%), 获得了满意的萃取效果。对不同浓度的专利蓝 V 样品的结果显示, 该方法能够实现检出质量浓度在  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  水平, 可有效满足现场监测需求。具有快速、方便、灵敏度高等特点。

**关键词** 专利蓝 V; 表面增强拉曼光谱; 自动固相萃取; 快速检测

中图分类号: O657.37 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)10-3205-05

### 引 言

目前, 食品安全问题已经成为了广大消费者极度关注的一个问题, 食品中外源添加物的快速检测已成为亟待解决的民生重要问题。食品添加剂严重超标以及大量使用非法添加物造成的食品安全问题, 极大地危害了广大人民群众的身心健康, 也影响了食品工业的健康发展。

合成色素是一类常见的食品添加剂, 在各种糖果、肉类、酒类和调料中均有使用。目前, 常用的色素检测方法主

要有色谱法、质谱法、免疫学方法等<sup>[1-3]</sup>, 色谱法、质谱法检测可靠性高, 但需要复杂的样品前处理过程, 耗时长、费用高, 不适于合成色素的实时监测与快速筛查; 免疫学方法制备抗体复杂, 难以适应色素种类繁多变的现状。表面增强拉曼光谱技术作为一种指纹光谱可以提供丰富的分子结构信息, 具有无损、快速、痕量分析等特点<sup>[4-5]</sup>, 从而被广泛地应用于定性检测, 在物理、化学、生物和生物制药<sup>[6-9]</sup>等领域具有广泛的运用。然而, 拉曼光谱所检测的目标物往往需要经过必要的前处理方能检测到拉曼光谱信号。

样品前处理过程中存在以下常见的问题: 样品存在形式

收稿日期: 2018-08-29, 修订日期: 2018-12-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(21874113)资助

作者简介: 王 昕, 1984 年生, 厦门大学航空航天学院仪器与电气系副教授 e-mail: xinwang@xmu.edu.cn

\* 通讯联系人 e-mail: jianhe98@xmu.edu.cn

多样;分析物浓度较低(微量或痕量水平);样品组成复杂;基质干扰严重。目前,传统的前处理技术,如索氏提取、溶剂提取、离心、蒸馏、层析、沉淀等,富集倍数较低、易出现乳化现象、操作费时费力,并且需要消耗大量的有毒有机试剂<sup>[10]</sup>。固相萃取(solid phase extraction, SPE)技术由于其具有简单、快速、准确、有效等优点,是近年来迅速发展的样品分析前处理技术之一。与传统的样品前处理方法相比,具有试剂用量少、操作步骤少、样品转移少、蒸发少、污染小、固定相范围宽、选择性好、回收率高、重现性好的特点,被广泛应用于食品中微量非法添加剂检测<sup>[9]</sup>。

然而,由于传统的手动萃取劳动重复性高、效率低、耗时耗力,整个手动操作过程占据了分析检测工作 80% 的工作量。因此,开发了一种全自动萃取装置,从而提高工作效率,并将其用于合成色素专利蓝 V 的表面增强拉曼光谱检测中,获得了良好的检测效果,能够满足食品安全检测的快速、高效、准确的要求。

## 1 全自动固相萃取装置设计

本文设计的自动固相萃取简化了人为操作过程中的手动进样等繁琐的过程,自动固相萃取只需通过装置设定好时间和进样流速等参数,即可实现固相萃取的自动化,从而进一步缩短了进样时间和萃取过程,装置结构示意图如图 1 所示。通过硬件电路控制蠕动泵和对应的多路阀门,即可实现对蠕动泵开关和流速的控制,从而实现活化、上样、淋洗、洗脱四个步骤。

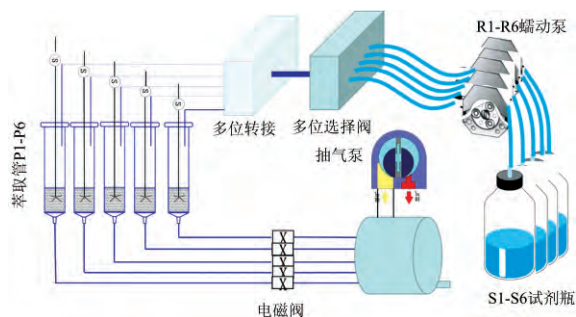


图 1 自动固相萃取装置结构示意图

Fig 1 Schematic diagram of automatic solid phase extraction device

## 2 实验部分

### 2.1 试剂及仪器

专利蓝 V(阿拉丁控股集团有限公司);甲醇(天津大学科威公司);实验用水;冰醋酸;二氯甲烷。洗脱液: pH 10 氢氧化钠溶液; Au 溶胶参数: 粒径约 55 nm, 形貌为球状, 浓度 Au 含量约为  $60 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

本文采用专利蓝 V 作为实验样品,这是一种化工染料,目前只有欧盟允许部分食品添加使用,在我国属禁用色素之一,但在进口糖果中常检出,长期超量食入该色素容易引起儿童多动症。因此,对于食品中的合成色素的添加使用范围

和限量标准各个国家都有严格的规定<sup>[11]</sup>。在 GB2760—2011 《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》中,我国对各种色素的使用也做出了明确的规定<sup>[12]</sup>。

电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);电热真空干燥箱;(天津市天宇实验仪器有限公司);电热鼓风干燥箱(天津市天宇实验仪器有限公司);PERS-F 便携式拉曼光谱仪(厦门普识纳米科技有限公司,激光波长 785 nm,功率 450 mW,扫描范围  $200 \sim 3200 \text{ cm}^{-1}$ ,分辨率  $7 \text{ cm}^{-1}$ );PERS-P01 一体化前处理仪(3 合 1)(厦门普识纳米科技有限公司,含超声、离心和浓缩三种功能);本文设计的全自动固相萃取装置。

试剂的制备方法:

(1) 配置不同浓度梯度的专利蓝 V( $0.5, 1, 5, 10, 20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )标准溶液。

(2) 量取 10 mL 的果汁饮料于 50 mL 的小烧杯中,加入 100  $\mu\text{L}$  的专利蓝标准样品溶液于上述烧杯中,并将该烧杯中的样品倒入贴标签的广口瓶中。

(3) 盖上盖子,确保盖子上的管子可以直接没入溶液当中。

萃取柱填料的选择:

在实验过程中,比较了不同规格萃取柱的回收率大小,发现乙腈/水-氯化钠分析层体系并不适用于专利蓝 V,回收率很低。因此,重点比较了聚酰胺萃取柱和 HLB 对饮料/色素的净化效果。三种不同规格的萃取柱回收率大小为: HLB6cc > 聚酰胺柱 > HLB3cc, HLB6cc 填料达到 200 mg 时,回收率最高。因此,后文的实验均采用 HLB6cc 萃取柱来提取饮料中的专利蓝 V。

表 1 不同萃取柱填料的回收率

Table 1 Recovery of different extraction column packings

萃取柱填料	回收率/%
聚酰胺柱	87
HLB3cc	85
HLB6cc	98

## 3 结果与讨论

对制备好的试剂进行固相萃取处理。自动固相萃取装置的设置参数如下:

(1) 活化: 只打开蠕动泵和对应的多路阀门,蠕动泵流速控制在  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,将 3 mL 甲醇和 5 mL 水注入固相萃取柱中,活化时间 1 min;

(2) 上样: 按上述流程添加 5 mL 制备好的样品到固相萃取柱中;

(3) 淋洗: 用 3 mL 水和 3 mL 甲醇先后进行淋洗,流速  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

(4) 洗脱: 用 6 mL 氯化甲醇洗脱,收集洗脱液,流速  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

(5) 清洗: 用甲醇和水清洗 30 s。

### 3.1 手动萃取和自动萃取的完成时间对比

对比手动萃取和自动萃取的时间,如图 2 所示。可以清楚地看出:

- (1) 手动萃取过程时间不稳定而且极大地受人为操作因素的影响;
- (2) 自动萃取比手动萃取更快速,完成时间大概是手动萃取的一半(自动萃取 5 min,手动萃取 10 min);
- (3) 手动萃取过程操作较为繁琐,不适合运用于多个样品的前处理。

因此,本文设计的自动萃取装置,萃取时间可控、稳定并省时,而且能同时处理 5 个样品,极大地节省了前处理过程的时间。

### 3.2 固相萃取后的专利蓝 V 拉曼光谱检测结果

使用拉曼光谱仪快速检测分别经过手动萃取和自动萃取的饮料中的专利蓝 V,检测步骤如下:取 200  $\mu\text{L}$  金纳米溶胶,20  $\mu\text{L}$  pers-A1 增强助剂(厦门市普识纳米科技公司提供)与 20  $\mu\text{L}$  洗脱液混合 5 s 后开始测定拉曼光谱,谱图采集时间为 5~10 s。

检测结果如图 3 所示,分别对浓度为 0.5, 1, 5, 10 和 20  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的样品进行表面增强拉曼光谱检测。可以看出,采用表面增强拉曼光谱技术对专利蓝 V 进行检测,可以获得的拉曼谱峰较多,峰型好且强度高,典型的拉曼谱峰有 798, 861, 899, 920, 1 001, 1 069, 1 156, 1 185, 1 225, 1 277, 1 426 和 1 618  $\text{cm}^{-1}$ ,可见采用的增强试剂起到了良好的增强效果。尤其对于 0.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度的样品,表面增强拉曼光谱技术依旧能够很好的获得光谱谱峰,因此本方法的检出质量浓度至少能够达到 0.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  水平。综合前处理和谱图采集时间,可以看出对单个样品的检测时间在 5~10 min,考虑到本文设计的固相萃取装置能够实现 5 个样品的同时处理,实际样品的平均检测时间将更低。因为专利蓝 V 的拉曼位移在 798, 1 156, 1 225 和 1 618  $\text{cm}^{-1}$  处的峰型尖且峰强较大,所以分别以上述 4 个谱峰强度建立专利蓝 V 浓度和拉曼峰强的标准曲线,并发现 1 618  $\text{cm}^{-1}$  处的决定系数最高,达到 0.908 7,如图 4 所示。

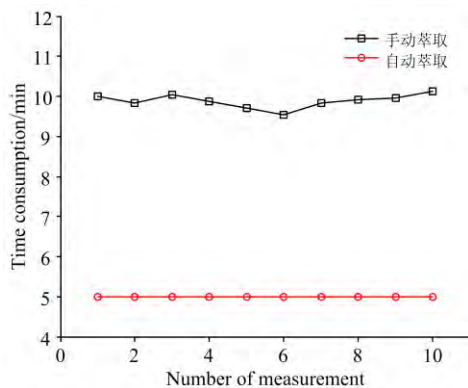


图 2 自动萃取和手动萃取的完成时间对比

Fig 2 Comparison of time consumption between automatic extraction and manual extraction

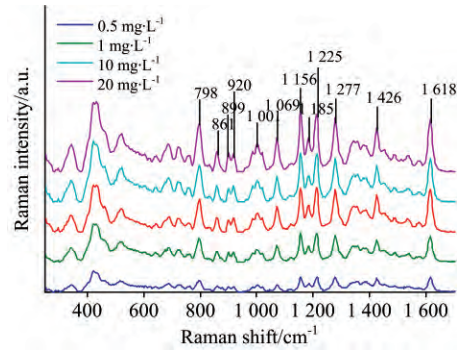


图 3 处理后的专利蓝 V 表面增强拉曼光谱图

Fig 3 Surface enhanced Raman spectroscopy of patent blue V after data processing

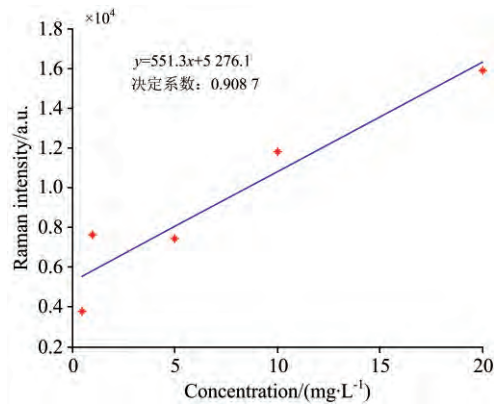


图 4 专利蓝 V 溶液的标准曲线

Fig 4 Standard curve of patent blue V solutions

为了检验固相萃取装置的萃取效果,手动萃取、自动萃取和未萃取的 1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  专利蓝样品拉曼光谱谱图如图 5 所示。可以看出,经过手动萃取和自动萃取的专利蓝 V 可以很成功地被检测出来,而且专利蓝的特征峰信号强于经过手工萃取的专利蓝信号(约增强 50%)。而没有经过任何处理的专

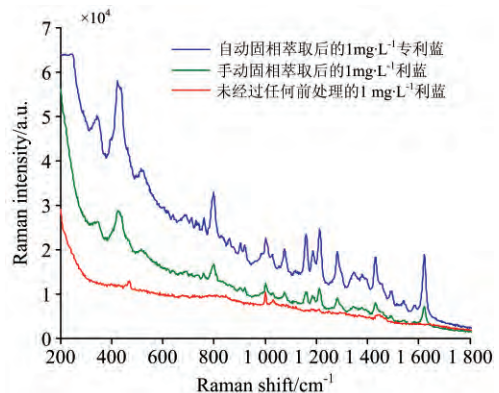


图 5 经过自动固相萃取、手动固相萃取以及未经过前处理的 1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的专利蓝 V 拉曼光谱图

Fig 5 1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  patented blue V Raman spectroscopy with automatic solid phase extraction, manual solid phase extraction and un-pretreated

利蓝 V 没办法从拉曼光谱仪中检测出来。经过上面的结果表明, 经过自动固相萃取前处理的专利蓝 V 可以更快更准确的被检测出来, 这对于食品安全中的快速检测具有重要的意义。

## 4 结 论

针对现有实验室方法操作复杂、耗时长且检测灵敏度低

等缺点, 提出了一种基于表面增强拉曼光谱检测技术的食品合成色素现场快速检测方法。同时, 为了适应拉曼光谱对样品前处理的需求, 设计了一套自动化固相萃取装置, 能够有效提高前处理效率并增强拉曼信号强度。本文方法具有快速(检测时间小于 10 min)、灵敏度高( $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  水平)等优点, 可以作为一种合成色素的快速筛查手段, 从而使食品安全检测更快速更高效地进行, 对实现食品安全快速检测具有重要的意义。

## References

- [1] SUN Ya-na, ZHU Lei, CUI Fang(孙亚娜, 朱 蕾, 崔 方). Food Science and Technology(食品科技), 2011, 36(12): 310.
- [2] ZHOU Fa-dong, LIU Xian-jun, LAI Chuang-ye, et al(周法东, 刘宪军, 来创业, 等). Meat Research(肉类研究), 2013, 27(6): 19.
- [3] GONG Qiang, DING Li, XIAO Jia-yong, et al(龚 强, 丁 莉, 肖家勇, 等). Food & Machinery(食品与机械), 2014, 30(1): 75.
- [4] Xie Yunfei, Chen Ting, Guo Yahui, et al. Food Chemistry, 2019, 270: 173.
- [5] Sun Huanhuan, Gao Renxian, Zhu Aonan, et al. Superlattices and Microstructures, 2018, 115: 59.
- [6] Patrick W Fedick, Brandon J Bills, Nicholas E Manicke, et al. Anal. Chem., 2017, 89(20): 10973.
- [7] Kang Yan, Wu Ting, Chen Wanchao, et al. Food Chemistry, 2019, 270: 494.
- [8] Chamuah N, Bhuyan N, Das P P, et al. Sensors and Actuators B-Chemical, 2018, 273: 710.
- [9] ZHAI Chen, LI Yong-yu, PENG Yan-kun, et al(翟 晨, 李永玉, 彭彦昆, 等). Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering(农业工程学报), 2017, 33(7): 275.
- [10] LIU Da-xing, FU Liu-jie, ZHAO Hua-long(刘大星, 付留杰, 赵怀龙). Chinese Journal of Health Laboratory Technology(中国卫生检验杂志), 2012, 22(4): 942.
- [11] ZHANG Yu-ping(张玉萍). Quality and Safety of Agro-Products(农产品质量与安全), 2013, (5): 44.
- [12] NHFPC, National Health and Family Planning Commission of China(国家卫生和计划生育委员会). GB2760—2011 National Food Safety Standard for Used of Food Additives(GB2760—2011 食品安全国家标准食品添加剂使用标准). Beijing: Standards Press of China(北京: 中国标准出版社), 2011.

# Rapid Detection of Patent Blue V Based on Surface Enhanced Raman Spectroscopy

WANG Xin<sup>1</sup>, HE Jian<sup>1\*</sup>, FANG Xian-guang<sup>1, 2</sup>, CHEN Qi-zhen<sup>3</sup>, ZENG Yong-ming<sup>3</sup>, LAI Fu-long<sup>3</sup>, CHEN Hong-ju<sup>3</sup>, TIAN Zhong-qun<sup>4</sup>

1. School of Aerospace Engineering, Xiamen University, Xiamen 361102, China

2. Fujian Key Laboratory of Universities and Colleges for Transducer Technology, Xiamen 361102, China

3. Xiamen Perser Technology Co. Ltd., Xiamen University, Xiamen 361102, China

4. College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361102, China

**Abstract** Food safety has been the focus problem concerned by the society and the general public whose current state is serious, so it is of great practical significance to realize the rapid detection of harmful substances in food. Synthetic pigment is a common food additive whose excessive and illegal addition is still one of the important problems in food safety, which greatly endangers the health of the people and the healthy development of food industry. Common synthetic pigment detection methods have the disadvantages of long time consumption and high cost, which are not suitable for real-time monitoring and rapid screening of synthetic pigments. In order to overcome the shortcomings of the traditional methods, this paper proposes the use of surface-enhanced Raman spectroscopy to detect synthetic pigments. This method has the advantages of fast detection speed and high detection sensitivity, and can achieve real-time detection in the field. In addition, since Raman detection methods often rely on complex sample preparation operations, and common solid phase extraction techniques rely on manual operations, which are complicated and time consuming, and seriously restrict the rapid detection efficiency of food. Therefore, in this paper, the automatic solid phase extraction device, including mechanical, electrical and software modules, was designed, and by precise control of peristaltic pump flow rate and multi-way valve switch in four steps of activation, loading, rinsing and elution, the device realized

the automatic fast solid phase extraction of food samples. In the experimental part, the juice drink with different patent blue V concentrations was prepared, and then the device was used to pre-treat the patent blue V in the juice, in which the extraction column packing and the time and parameters of each step were rationally selected, and then the Raman spectra of patented blue V were successfully detected. The experimental results showed that, compared with traditional manual extraction, the automatic solid phase extraction device has saved nearly half of the extraction time (10 minutes down to 5 minutes) and can process five samples at the same time. The extraction time was not easy to be affected by human factors which significantly improved the efficiency and stability of the sample pretreatment. Meanwhile, because it was relatively less interfered by the external environment, a stronger Raman spectral signal (about 50% enhancement) could be obtained, so the extraction effect was also satisfactory. The results of different concentrations of patented blue V samples show that the method can achieve a detection concentration of  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , which can effectively meet the needs of on-site monitoring, and is characterized by fast, convenient and high sensitivity.

**Keywords** Patent blue V; Surface-enhanced Raman spectroscopy; Automatic solid phase extraction; Fast detection

(Received Aug. 29, 2018; accepted Dec. 20, 2018)

\* Corresponding author

---

## 敬告读者——《光谱学与光谱分析》已全文上网

从 2008 年第 7 期开始在《光谱学与光谱分析》网站([www.gpxygpx.com](http://www.gpxygpx.com))“在线期刊”栏内发布《光谱学与光谱分析》期刊全文,读者可方便地免费下载摘要和 PDF 全文,欢迎浏览、检索本刊当期的全部内容;并陆续刊出自 2004 年以后出版的各期摘要和 PDF 全文内容。2009 年起《光谱学与光谱分析》每期出版日期改为每月 1 日。

《光谱学与光谱分析》期刊社